

TCVN 8111 : 2009

ISO/TS 6090 : 2004

Xuất bản lần 1

**SỮA, SỮA BỘT, BUTTERMILK,
BUTTERMILK BỘT, WHEY VÀ WHEY BỘT –
PHÁT HIỆN HOẠT ĐỘ PHOSPHATAZA**

*Milk and dried milk, buttermilk and buttermilk powder,
whey and whey powder – Detection of phosphatase activity*

Lời nói đầu

TCVN 8111 : 2009 hoàn toàn tương đương với ISO/TS 6090 : 2004;

TCVN 8111 : 2009 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F12
Sữa và sản phẩm sữa biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất
lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Sữa, sữa bột, buttermilk, buttermilk bột, whey và whey bột – Phát hiện hoạt tính phosphatasa

*Milk and dried milk, buttermilk and buttermilk powder, whey and whey powder –
Detection of phosphatase activity*

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp sàng lọc để phát hiện hoạt tính phosphatasa trong sữa bò và sữa bột, buttermilk và buttermilk bột và whey và whey bột.

Hiện có hai quy trình có thể thay thế (A và B). Quy trình A đơn giản hơn vì không bao gồm việc xử lý gạn lọc và đặc biệt phù hợp với sữa. Quy trình B bao gồm bước gạn lọc, cho phép phát hiện với độ nhạy cao hơn, do đó thu được kết quả định lượng tốt hơn nếu muốn.

Nếu sử dụng phương pháp này để kiểm tra quá trình thanh trùng đúng của các sản phẩm hoặc nguyên liệu của các sản phẩm nêu trên thì cần thực hiện các phép thử tiếp theo để đảm bảo rằng hoạt tính phosphatasa không phải do phosphatasa của các vi sinh vật bền nhiệt (xem 9.3.1) hoặc phosphatasa tái hoạt hoá (xem 9.3.2).

CHÚ THÍCH Trong Phụ lục A mô tả phương pháp sử dụng thuốc thử độc quyền đã được cấp bằng sáng chế.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi, bổ sung (nếu có).

ISO 3356, *Milk and dried milk, buttermilk and buttermilk powder, whey and whey powder – Determination of phosphatase activity (Reference method)* [Sữa và sữa bột, buttermilk và buttermilk bột, và whey và whey bột – Xác định hoạt tính phosphatasa (Phương pháp chuẩn)]

3 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này sử dụng thuật ngữ và định nghĩa sau đây:

3.1

Hoạt tính phosphataza (phosphatase activity)

Hoạt tính của phosphataza kiềm (chưa biến tính) được xác định bằng các quy trình mô tả trong tiêu chuẩn này.

CHÚ THÍCH Hoạt tính phosphataza được biểu thị theo kết quả âm tính hay dương tính và/hoặc "cần được xác định lại theo ISO 3356".

4 Nguyên tắc

Mẫu sản phẩm dạng lỏng hoặc sản phẩm hoàn nguyên được pha loãng với cơ chất đệm chứa dinatri *p*-nitrophenyl phosphat ở pH 10,6 và được ủ ở nhiệt độ 37 °C trong 2 h. *p*-nitrophenol được giải phóng từ quá trình thủy phân dưới ảnh hưởng của mỗi hoạt tính phosphataza kiềm có trong mẫu. *p*-nitrophenol được phát hiện trực tiếp (phương pháp A) hoặc sau khi gạn lọc (phương pháp B) bởi màu vàng có thể nhìn bằng mắt thường hoặc bằng cách đo phổ. Nếu kết quả dương tính, thì kiểm tra mẫu về sự có mặt của phosphataza vi sinh vật bền nhiệt qua quá trình thanh trùng, hoặc sự có mặt của phosphataza tái hoạt hoá khi pha loãng mẫu bằng dung dịch magiê axetat. Có thể dùng phương pháp A hoặc phương pháp B để phát hiện sự có mặt của chúng.

5 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích, nước sử dụng phải là nước cất hoặc nước có độ tinh khiết tương đương, trừ khi có quy định khác.

5.1 Dung dịch natri hydroxit, $c(\text{NaOH}) = 0,5 \text{ mol/l}$ hoặc $0,1 \text{ mol/l}$.

5.2 Dung dịch đệm dietanolamin hydroclorua, pH = 10,6.

Hoà tan 15,8 g dietanolamin hydroclorua $[(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{NH}_2\text{Cl}]$ trong nước. Thêm nước đến 1 000 ml.

5.3 Dung dịch cơ chất đệm

Hoà tan 1,5 g dinatri *p*-nitrophenol phosphat hoặc 1,3 g dihydro *p*-nitrophenol phosphat trong dung dịch đệm dietanolamin hydroclorua (5.2). Pha loãng bằng dung dịch đệm đến 1 000 ml.

Dung dịch cơ chất đệm bền trong 4 tuần nếu bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ 4 °C hoặc thấp hơn. Nếu thêm cloroform (CHCl_3) 0,1 % thì dung dịch cơ chất đệm có thể bền trong 3 tháng đến 4 tháng ở nhiệt độ trên.

Sự tạo thành màu vàng chứng tỏ tính không ổn định của dung dịch. Phép thử luôn được kiểm chứng thực hiện với sản phẩm đối chứng đã đun sôi chứa cùng một lượng cơ chất đệm. Do đó, nên chuẩn bị một dung dịch mới nếu độ màu đo được trong cuvet 25 mm của máy so màu (6.3) vượt quá 10 µg so với khi dùng nước cất trong cuvet 25 mm khác.

5.4 Chất kết tủa

5.4.1 Dung dịch kẽm sulfat

Hoà tan 30 g kẽm sulfat ngậm bảy phân tử nước ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) trong nước. Thêm nước đến 100 ml.

5.4.2 Dung dịch kali hexaxyanoferrat (II)

Hoà tan 15 g kali hexaxyanoferrat (II) ngậm ba phân tử nước ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) trong nước. Thêm nước đến 100 ml.

5.5 Dung dịch magiê axetat

Hoà tan 35,4 g magiê axetat ($\text{Mg}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) trong 25 ml nước. Đun nhẹ cho đến khi magiê axetat hoà tan hoàn toàn. Thêm nước đến 100 ml.

5.6 Giấy quỳ.

6 Thiết bị, dụng cụ

6.1 Cân, có thể cân chính xác đến 0,1 g.

6.2 Nồi cách thủy, có thể hoạt động ở nhiệt độ $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$, $63^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ và ở nhiệt độ sôi.

6.3 Máy đo phổ, thích hợp để đo độ hấp thụ ở bước sóng 405 nm, hoặc máy so màu (tùy chọn), có đĩa chứa kính màu chuẩn, dùng để so sánh màu bằng mắt thường dưới ánh sáng phản xạ và được hiệu chỉnh theo số microgam *p*-nitrophenol trên mililit sản phẩm, có hai cuvet 25 mm.

6.4 Ống nghiệm, đường kính 16 mm, dài 150 mm, có nút đậy khít.

Sau khi sử dụng, làm sạch các ống nghiệm theo quy trình như sau: đổ hết chất lỏng trong ống ra, tráng ống bằng nước sau đó rửa với nước nóng chứa chất tẩy rửa kiềm và tráng kĩ lần nữa bằng nước nóng sạch. Cuối cùng, tráng ống bằng nước cất và sấy khô trước khi sử dụng lại. Tráng kĩ nút đậy ống nghiệm trong nước nóng sau khi dùng, đun sôi trong nước cất trong 2 min và cũng sấy khô trước khi sử dụng lại. Có thể sử dụng phương pháp làm sạch khác khi cho độ sạch tương đương.

6.5 Pipet một vạch, hoặc pipet chia độ, dung tích 0,5 ml, 1 ml, 2 ml, 5 ml và 10 ml.

Tráng kĩ pipet bằng nước sạch ngay sau khi sử dụng, sau đó tráng bằng nước cất và sấy khô trước khi sử dụng lại.

6.6 Giấy lọc, loại trung bình, có kích thước thích hợp.

6.7 Tủ ẩm, có thể duy trì nhiệt độ ở $34\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

7 Lấy mẫu

Mẫu gửi đến phòng thử nghiệm phải đúng là mẫu đại diện và không bị hư hỏng hoặc không bị biến đổi chất lượng trong quá trình vận chuyển và bảo quản.

Việc lấy mẫu không qui định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 6400 (ISO 707).

8 Chuẩn bị mẫu thử và mẫu kiểm chứng

8.1 Sữa, buttermilk và whey

Tốt nhất là thực hiện phân tích ngay sau khi lấy mẫu. Nếu không thì giữ mẫu thử trong tủ lạnh (để tránh tái hoạt hoá enzym bất hoạt) không quá hai ngày.

Trộn kĩ mẫu thử, gia nhiệt vừa phải, nhưng không được để nhiệt độ vượt quá $35\text{ }^{\circ}\text{C}$, nếu cần.

8.2 Sữa bột, buttermilk bột và whey bột

Cân 10 g mẫu thử, chính xác đến 0,1 g. Hoà tan mẫu thử trong 90 ml nước. Trộn kĩ mẫu thử đã hoàn nguyên như trên bằng cách gia nhiệt vừa phải, nhưng không được để nhiệt độ vượt quá $35\text{ }^{\circ}\text{C}$.

8.3 Các sản phẩm có vị chua

Thêm một lượng vừa đủ dung dịch natri hydroxit (5.1) vào sản phẩm có vị chua hoặc sản phẩm hoàn nguyên có vị chua đến khi nhỏ một giọt lên giấy quỳ (5.6) cho phản ứng trung tính.

8.4 Mẫu kiểm chứng

Đun sôi kĩ vài mililit mẫu thử (8.1, 8.2 hoặc 8.3) trong ống nghiệm (6.4) trong hơn 2 s. Đảm bảo toàn bộ mẫu trong ống được gia nhiệt đều. Để nguội đến nhiệt độ phòng.

9 Cách tiến hành

CẢNH BÁO – Trong quá trình xác định tránh các ảnh hưởng của ánh sáng mặt trời trực tiếp. Tránh nhiễm bẩn từ nước bọt hay mồ hôi vì có thể cho kết quả dương tính giả. Với lí do trên, cần chú ý đặc biệt khi lấy mẫu bằng pipet.

9.1 Quy trình A (không xử lí lắng gạn và đặc biệt thích hợp với sữa)

9.1.1 Phản mẫu thử

9.1.1.1 Dung dịch thử

Dùng pipet lấy 5 ml dung dịch cơ chất đệm (5.3) cho vào ống nghiệm khô, sạch (6.4). Thêm 1 ml mẫu thử đã chuẩn bị (8.1, 8.2 hoặc 8.3). Đậy nút ống nghiệm và đảo chiều ống nghiệm để trộn lượng chứa trong ống.

9.1.1.2 Dung dịch kiểm chứng

Dùng pipet lấy 5 ml dung dịch cơ chất đệm (5.3) cho vào ống nghiệm khô, sạch (6.4) khác. Thêm 1 ml mẫu kiểm chứng (8.4). Đậy nút ống nghiệm và đảo chiều ống nghiệm để trộn lượng chứa trong ống.

9.1.2 Xác định

9.1.2.1 Đặt cả hai ống nghiệm (9.1.1.1 và 9.1.1.2) vào nồi cách thủy (6.2) trong 2 h ở nhiệt độ 37 °C.

9.1.2.2 Sau 2 h, lấy hai ống nghiệm ra khỏi nồi cách thủy. Đậy nút ống nghiệm và đảo chiều ống nghiệm để trộn lượng chứa trong ống. Mở nút. So sánh dung dịch thử với dung dịch kiểm chứng, có thể nhìn bằng mắt thường hoặc dùng máy so màu đặc biệt, nếu cần (6.3).

9.1.3 Kết quả thử nghiệm

Phản ứng được coi là phosphatase âm tính khi màu của dung dịch thử giống hoặc nhìn gần giống màu của dung dịch kiểm chứng trong máy so màu (9.1.2.2). Phản ứng được coi là phosphatase dương tính khi dung dịch thử có màu vàng rõ.

Trong trường hợp nghi ngờ, tiến hành xác định theo quy trình B (9.2) hoặc theo ISO 3356.

Khi sử dụng máy so màu đặc biệt (6.3), đọc hàm lượng *p*-nitrophenol của dung dịch thử bằng cách so sánh với dung dịch kiểm chứng, ống nghiệm chứa dung dịch kiểm chứng được đặt trước kính màu chuẩn trong đĩa. Nếu cần ánh sáng nhân tạo để đọc màu thì ánh sáng được chiếu càng giống ánh sáng ban ngày càng tốt.

Nếu phản ứng được coi là dương tính thì tiến hành theo 9.3.

9.2 Quy trình B (có xử lý gạn lắng)

9.2.1 Phản mẫu thử

9.2.1.1 Dung dịch thử

Dùng pipet lấy 15 ml dung dịch cơ chất đệm (5.3) cho vào ống nghiệm khô, sạch (6.4). Thêm 2 ml mẫu thử đã chuẩn bị (8.1, 8.2 hoặc 8.3). Đậy nút ống nghiệm và đảo chiều ống nghiệm để trộn lượng chứa trong ống.

9.2.1.2 Dung dịch kiểm chứng

Dùng pipet lấy tiếp 15 ml dung dịch cơ chất đệm (5.3) cho vào ống nghiệm khô, sạch (6.4) khác. Thêm 2 ml mẫu kiểm chứng (8.4). Đậy nút ống nghiệm và đảo chiều ống nghiệm để trộn lượng chứa trong ống.

9.2.2 Xác định

9.2.2.1 Đặt cả hai ống nghiệm (9.2.1.1 và 9.2.1.2) vào nồi cách thủy (6.2) trong 2 h ở nhiệt độ 37 °C.

9.2.2.2 Sau 2 h, lấy hai ống nghiệm ra khỏi nồi cách thủy. Mở nút. Thêm 0,5 ml dung dịch kẽm sulfat (5.4.1) vào lượng chứa trong cả hai ống nghiệm. Đậy ống và lắc mạnh. Để yên hai ống nghiệm này trong 3 min.

Lại mở nút ống nghiệm. Thêm 0,5 ml dung dịch kali hexaxyanoferrat (II) (5.4.2) vào lượng chứa trong các ống. Trộn kĩ và lọc lượng chứa trong mỗi ống qua giấy lọc gấp nếp (6.6), thu riêng từng dịch lọc vào các ống nghiệm khô, sạch (6.4).

9.2.2.3 So sánh dung dịch thử với dung dịch kiểm chứng, có thể nhìn bằng mắt thường hoặc dùng máy so màu đặc biệt hoặc dùng máy đo phổ (6.3) ở bước sóng 405 nm, nếu cần.

9.2.3 Kết quả thử nghiệm

9.2.3.1 Khi so sánh bằng mắt thường, phản ứng được coi là phosphatasa âm tính nếu màu của dung dịch thử giống hoặc gần giống màu của dung dịch kiểm chứng và phản ứng được coi là phosphatasa dương tính nếu dung dịch thử có màu vàng rõ. Sử dụng máy đo phổ trong trường hợp nghi ngờ.

9.2.3.2 Nếu phản ứng được coi là dương tính, tiến hành theo 9.3.

9.3 Phép thử về phosphatasa bền nhiệt và tái hoạt hoá

9.3.1 Yêu cầu chung

Để đảm bảo rằng kết quả thử phosphatasa dương tính thu được khi sử dụng quy trình A (9.1) hoặc quy trình B (9.2) không phải do sự có mặt của phosphatasa vi sinh vật bền nhiệt hay sự có mặt của phosphatasa tái hoạt hoá, cần tiến hành các phép thử sau đây.

9.3.2 Phép thử về phosphatasa vi sinh vật bền nhiệt

9.3.2.1 Thanh trùng mẫu thử

Chuyển 10 ml mẫu thử đã chuẩn bị (8.1, 8.2 hoặc 8.3) vào hai ống nghiệm khô, sạch (6.4). Đậy nút một ống và đặt nhiệt kế vào ống còn lại (kiểm chứng) để kiểm tra nhiệt độ.

Đặt cả hai ống vào nồi cách thủy (6.2) ở nhiệt độ 63 °C, sao cho mức của mẫu thấp hơn mức nước trong nồi cách thủy. Nhiệt độ của mẫu cần đạt được 63 °C trong vòng 5 min. Duy trì nhiệt độ trong ống nghiệm ở 63 °C nhiều hơn 30 min.

Lấy các ống nghiệm ra khỏi nồi cách thủy. Làm nguội ngay các ống đến nhiệt độ phòng trong nước đá trong khi sử dụng ống kiểm chứng để kiểm tra nhiệt độ.

9.3.2.2 Xác định

Sử dụng phần mẫu thử để kiểm tra mẫu thử theo quy trình (A hoặc B).

9.3.2.3 Kết quả thử nghiệm

Nếu phần mẫu thử được thanh trùng trong phòng thử nghiệm cho kết quả hoạt tính phosphatase dương tính thì mẫu thử có chứa phosphatase bền nhiệt. Xem xét kết quả này khi sử dụng phương pháp trên để kiểm tra quá trình thanh trùng sản phẩm.

9.3.3 Phép thử về phosphatase tái hoạt hoá

9.3.3.1 Chuẩn bị mẫu thử để pha loãng và để kiểm chứng

Chuyển 10 ml mẫu thử đã chuẩn bị (8.1, 8.2 hoặc 8.3) vào ống nghiệm khô, sạch (6.4). Đặt ống nghiệm vào nồi cách thủy (6.2). Dùng một nhiệt kế khô để kiểm tra sao cho nhiệt độ mẫu thử đạt 95 °C và giữ nhiệt độ đó trong 1 min. Sau đó làm nguội nhanh về nhiệt độ phòng trong nước đá. Dùng mẫu chuẩn bị như trên để pha loãng (9.3.2.2) và để kiểm chứng (đun sôi).

9.3.3.2 Tái hoạt hoá

Chuyển 5 ml mẫu thử đã chuẩn bị (8.1, 8.2 hoặc 8.3) vào ống nghiệm khô, sạch (6.4). Thêm 0,1 ml nước và trộn (ống 1). Sau đó chuyển 5 ml khác của phần mẫu thử đã chuẩn bị vào một ống nghiệm (6.4) đã đánh dấu. Thêm 0,1 ml dung dịch magiê axetat (5.5) và trộn (ống 2).

Ủ cả hai ống nghiệm trong tủ ấm (6.7) ở nhiệt độ 34 °C trong 1 h. Làm nguội nhanh đến nhiệt độ phòng trong nước đá.

Chuyển 1 ml lượng chứa trong ống 2 vào một ống khô, sạch (6.4) khác. Pha loãng bằng 5 ml mẫu thử đã đun sôi (9.3.2.1) và trộn (ống 3). Không pha loãng lượng chứa trong ống 1.

9.3.3.3 Phương pháp xác định

Sử dụng phần mẫu thử để kiểm tra lượng chứa trong ống 1 và ống 3 theo quy trình (A hoặc B).

9.3.3.4 Kết quả thử nghiệm

Nếu lượng chứa trong ống 3 (mẫu đã pha loãng chứa magiê axetat) có hoạt tính phosphataza bằng hoặc lớn hơn hoạt tính phosphataza của mẫu chưa pha loãng ống 1 (không chứa magiê axetat), thì coi như mẫu thử âm tính với dư lượng phosphataza.

Điều này cho thấy phosphataza được nhận biết lần đầu theo quy trình A (9.1) hoặc B (9.2) có nguồn gốc tái hoạt hoá.

Tuy nhiên, nếu lượng chứa trong ống 3 có hoạt tính thấp hơn so với ống 1 thì coi như mẫu thử dương tính với dư lượng phosphataza [lưu ý rằng phép thử phosphataza ban đầu theo quy trình A (9.1) hoặc B (9.2) có kết quả dương tính].

CHÚ THÍCH Phép thử lần đầu có thể cho kết quả dương tính giả khi mẫu thử chứa phosphataza tái hoạt hoá được để ở nhiệt độ đã nâng cao (21 °C đến 24 °C) trong hơn 2 h.

10 Biểu thị kết quả

Biểu thị các kết quả là âm tính hoặc dương tính, và/hoặc "cần được xác định lại theo ISO 3356".

Khi đo màu bằng máy đo phổ hoặc máy so màu (6.3) thì ghi lại kết quả đọc trực tiếp thu được trong 9.1.2.3 hoặc 9.2.2.3 theo microgam *p*-nitrophenol trên mililit mẫu thử hoặc mẫu thử hoàn nguyên, nếu thích hợp.

Ghi lại kết quả đọc của hai kính màu chuẩn bằng cách thêm dấu cộng (+) hoặc dấu trừ (-) trước giá trị theo kính màu chuẩn gần nhất.

11 Độ chụm

11.1 Phép thử liên phòng thử nghiệm

Các giá trị về độ lặp lại thu được từ các kết quả của phép thử nghiệm tiến hành theo TCVN 6910-1 (ISO 5725-1).

Các giá trị nhận được từ phép thử liên phòng thử nghiệm này có thể không áp dụng được cho các dải nồng độ và chất nền khác với các dải nồng độ và chất nền đã nêu. Luật pháp và quy chuẩn quốc gia có thể quy định giới hạn cụ thể đối với hoạt tính phosphataza của các sản phẩm khác nhau.

11.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử độc lập, riêng rẽ, thu được khi sử dụng cùng một phương pháp, trên cùng một loại vật liệu thử, trong cùng phòng thử nghiệm, do cùng một người thao tác và sử dụng cùng một thiết bị trong cùng một khoảng thời gian ngắn như nhau, không quá 5 % trường hợp lớn hơn 2 µg *p*-nitrophenol trong dải giới hạn từ (0 đến 14) µg *p*-nitrophenol trên mililit mẫu thử hoặc mẫu thử hoàn nguyên.

CHÚ THÍCH Kết quả thu được khi sử dụng máy so màu có tính hướng dẫn. Số liệu về độ chệch thực sự được xác định bằng cách sử dụng phương pháp định lượng quy định trong ISO 3356.

12 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- a) mọi thông tin cần thiết về việc nhận biết đầy đủ mẫu thử;
- b) phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- c) phương pháp thử đã sử dụng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- d) mọi chi tiết thao tác không quy định trong tiêu chuẩn này hoặc được cho là tùy chọn, cùng với các chi tiết bất thường nào khác có thể ảnh hưởng tới kết quả;
- e) kết quả thử nghiệm thu được, và nếu kiểm tra độ lặp lại thì nêu kết quả cuối cùng thu được.

Phụ lục A

(Tham khảo)

Quy trình thay thế sử dụng thuốc thử độc quyền đã được cấp bằng sáng chế

A.1 Giới thiệu

Thuốc thử độc quyền có bán sẵn được dùng để hoà tan nhanh chóng các cấu tử dạng keo trong sữa. Kỹ thuật này làm ngừng phản ứng enzym, do đó thu được hỗn hợp trong hoàn toàn trong một thời gian ngắn. Quy trình quy định trong phụ lục này có thể áp dụng được.

A.2 Thuốc thử hoà tan

Thuốc thử hoà tan là sản phẩm có bán sẵn.

A.3 Chuẩn bị mẫu thử và mẫu kiểm chứng

Xem Điều 8.

A.4 Cách tiến hành

A.4.1 Phân mẫu thử

Xem 9.2.1.

A.4.2 Xác định

A.4.2.1 Đậy nút các ống và trộn bằng cách đảo chiều ống nghiệm. Đặt các ống vào nồi cách thuỷ (6.2) ở nhiệt độ 37 °C trong 2 h.

A.4.2.2 Lấy các ống ra khỏi nồi cách thuỷ và xử lý mỗi ống như sau:

Mở nút ống. Thêm 8 ml thuốc thử hoà tan (A.2). Đậy nút ống và lắc ống để trộn lượng chứa bên trong. Đặt ống vào nồi cách thuỷ (6.2) ở nhiệt độ 37 °C trong 2 h.

A.4.2.3 So sánh màu của dung dịch thử với màu của dung dịch kiểm chứng bằng mắt thường hoặc dùng máy so màu đặc biệt (6.3) hoặc máy đo phổ (6.3) ở bước sóng 405 nm, nếu cần.

A.4.2.4 Khi so sánh bằng mắt thường, phản ứng được coi là phosphatasa âm tính nếu màu của dung dịch thử giống hoặc gần giống màu của dung dịch kiểm chứng và phản ứng được coi là phosphatasa dương tính nếu dung dịch thử có màu vàng rõ. Sử dụng máy đo phổ (6.3) khi nghi ngờ.

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 6400 (ISO 707), *Sữa và sản phẩm sữa – Hướng dẫn lấy mẫu.*
 - [2] TCVN 6910-1 (ISO 5725-1), *Độ chính xác (độ đúng và độ chụm) của phương pháp đo và kết quả đo – Phần 1: Nguyên tắc và định nghĩa chung*
 - [3] TCVN 6910-2 (ISO 5725-2), *Độ chính xác (độ đúng và độ chụm) của phương pháp đo và kết quả đo – Phần 2: Phương pháp cơ bản xác định độ lặp lại và độ tái lập của phương pháp đo tiêu chuẩn*
 - [4] ASCHAFFENBURG, R. and MULLEN, J.E.C. *J. Dairy Research*, 6, 1949, pp. 55-67
-